Aus der Medizinischen Klinik
der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. W. Dölle

UNTERSUCHUNGEN ÜBER ANTIKÖRPER GEGEN HOCHJODIERTE SERUMPROTEINE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Albin Elischer
aus
Lam

1978

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523712_0044

Aus der Medizinischen Klinik
der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. W. Dölle

UNTERSUCHUNGEN ÜBER ANTIKÖRPER GEGEN HOCHJODIERTE SERUMPROTEINE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Albin Elischer
aus
Lam

1978

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. H.-E.Hoffmeister
Berichterstatter: Professor Dr. E.Kallee
(Professor Dr. W.Dölle)

MEINEN ELTERN GEWIDMET

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung und Fragestellung 1

II. Methodik 5

A) Herstellung der Antigene
B) Hyperimmunisierung
C) Nachweisreaktionen

III. Ergebnisse 15

IV. Tabellen und Abbildungen 18

V. Diskussion 42

VI. Zusammenfassung 45

VII. Literaturverzeichnis 46

Lebenslauf

I. EINLEITUNG

In den letzten Jahren erfuhr die Anwendung von Jod und jodhaltigen Verbindungen auf medizinischem Sektor einen sprunghaften Anstieg. Sei es zu diagnostischen oder therapeutischen Zwecken, Jodverbindungen werden zusehends häufiger angewendet. Nach Jodapplikation können jedoch zahlreiche und vielgestaltige Nebenreaktionen auftreten, die unter den Oberbegriffen Jodtoxikodermie und Jodismus (= Jodallergie) zusammengefaßt werden. Zu nennen wären in erster Linie Jodakne, Jodpurpura, Jodexanthem, Joddermatitis, Jodkonjunktivitis und Jododerma bullosum bis hin zum eigenen Krankheitsbild der Jodoform-Psychose.
In der Regel handelt es sich dabei um Intoxikationen, hervorgerufen durch Überdosierung oder Kumulation; weitaus seltener sind immunologische Vorgänge. Ob eine pharmakologische, toxische oder allergische Wirkung zugrunde liegt, ist gerade bei Jod oft außerordentlich schwierig zu beurteilen. Trotz der relativ seltenen Manifestation eines Jodismus zählt Jod aufgrund der Häufigkeit seiner Anwendung dennoch zu den wichtigsten Arzneimittelantigenen (GRONEMEYER, 1957; HANSEN, 1957).
Die Stimulation antikörperproduzierender Zellen beruht wahrscheinlich auf verschiedenen molekularen Mechanismen und speziellen physikochemischen Eigenheiten der Antigene. Dabei müssen die molekularen Eigenschaften eines bestimmten Antigens, welche zum Beispiel eine allergische Reaktion vom Soforttyp I hervorrufen, nicht unbedingt Reaktionen anderer Typenbezeichnungen induzieren (COOMBS u. GELL, 1963). Durch Kreuzreaktionen oder durch Induktion können jedoch mehrere Reaktionstypen gleichzeitig auftreten. Dies gilt auch für die Anwendung von Jod und jodhaltigen Verbindungen.
Die hier in erster Linie zur Diskussion stehenden jodhaltigen Arzneimittel können für sich allein als niedermolekulare Verbindungen keine Antikörperbildung induzieren, jedoch besitzen sie Hapteneigenschaften (EISEN, 196o;

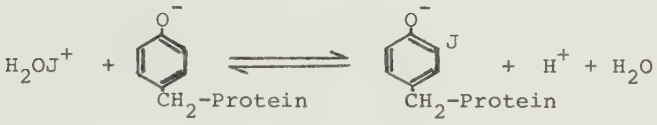
PARKER, 1965). Erst die Kombination mit einem Makromolekül, zum Beispiel einem großmolekularen, als Vehikel dienenden Plasmaprotein, macht sie daher zum Vollantigen (STEFFEN, 1968). Die Verbindung zwischen Hapten und Trägermolekül entsteht in der Regel nach Applikation in vivo und muß, soll sie immunogen sein, kovalent, das heißt irreversibel sein (GELL et al., 1948).
Wieder zerfallende Protein-Hapten-Konjugate gehen keine Interaktion mit den Rezeptoren antikörperbildender Strukturen ein, ja sie blockieren sogar zusammen mit Überschüssen nicht gebundenen Haptens die Immunreaktion. Dieses Phänomen erklärt die relative Seltenheit allergischer Zwischenfälle selbst bei Chemikalien mit hoher Reaktivität gegenüber Proteinen (ACKROYD, 1975).
In der experimentellen Immunologie werden häufig in vitro stabile Protein-Hapten-Konjugate mit bekannten chemischen Strukturen und hinreichend erforschten immunologischen Eigenschaften synthetisiert (PAULING et al., 1942; LANDSTEINER, 1947). Besonders geeignet dafür sind Proteine, an die niedermolekulare Gruppen mit bekanntem, möglichst einfachem Aufbau über kovalente Bindungen gekuppelt werden. Ein häufig angewandtes Verfahren ist die Jodierung (Übersicht bei WILLIAMS u. CHASE, 1967).
Bei der Jodierung von Proteinen werden die H-Atome in Orthostellung der OH-Gruppe des Tyrosins durch Jodatome substituiert. Im Gleichgewicht mit freiem Jod bildet sich nach folgender Gleichung der lösliche Komplex J_3^- :

$$J_3^- \rightleftharpoons J_2 + J^-$$

Bei der Jodierung der Tyrosylreste reagiert nur Jod, und zwar als $H_2JO_3^+$, das in wässriger KJ-Lösung folgendermassen vorliegt:

$$J_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2JO_3^+ + J$$

Die Reaktion von Hypojodit mit Tyrosylresten im Protein läuft folgendermaßen ab:



(KABAT, 1971)

Ein zweites Molekül H_2OJ^+ kann weiterreagieren zu Dijodtyrosin (Übersicht bei KALLEE, 1969). Bei genügendem Jodangebot findet in zahlreichen oxidativen Nebenreaktionen ebenfalls eine Substitution des Histidins statt (HUNTER u. GREENWOOD, 1962). Auch das Histidin kann zwei Jodatome aufnehmen. Da der prozentuale Tyrosingehalt des Humanalbumins bei etwa 4,7 %, der von Histidin bei 3,5 % liegt (TRISTAM u. SMITH, 1963), können bei erschöpfender Jodierung vom Tyrosin maximal 6,6 g%, vom Histidin maximal 5,74 g% gebunden werden. Theoretisch wäre demgemäß bei maximaler Jodierung ein Jodgehalt des Humanalbumins von höchstens 12,34 g% zu erwarten.

Zur Analyse des Antikörpergehaltes eines Antiserums wurde früher die Mikrostickstoffbestimmung nach KJELLDAL herangezogen. Diese Methode war jedoch sehr zeitraubend und erforderte erhebliche Mengen Antiserum. Für die Präzipitinreaktion nach HEIDELBERGER u. KENDALL (1935) sind verhältnismäßig geringe Mengen an Antiserum ausreichend. Wegen der hohen Empfindlichkeit von Strahlungsmeßgeräten ist bei Verwendung radioaktivmarkierter Antigene mit außerordentlich kleinen Antikörpermengen im ng-Bereich auszukommen, wobei die Radiojodmarkierung gegenwärtig als optimale Signierungsmethode gilt.

Nach EISEN u. KESTON (1949) wird bei der immunologischen Präzipitinreaktion im Bereich des Antikörperüberschusses

im wesentlichen das gesamte markierte Antigen präzipitiert. Am Ende des Antikörperüberschusses der Äquivalenzzone verbleibt erstmalig Antigen im Überstand, und die prozentuale Radioaktivität sinkt im Antigenüberschußbereich unter die 1oo %-Marke. Dieser Punkt kann als Maß für die Antigen-Bindungskapazität eines Antiserums verwendet werden (KABAT, 1971).
Um ein Maximum an Antigenitätsänderung und damit Veränderung der haptophoren Gruppen zu erreichen, mußten für die vorliegende Arbeit möglichst vollständig jodgesättigte Proteine hergestellt werden. Mit Hilfe der Methode nach Mc FARLANE (1956) ließen sich als Endprodukte etwa 1o,6 %-ige Jodhumanalbumin- und etwa 9,8 %-ige Jodkaninchenalbumin-Lösungen erreichen. Gegen diese hochgradig jodierten Proteine wurden jeweils elf Kaninchen hyperimmunisiert. Anschließend wurden die relativen Antikörper der Antiseren mittels der Präzipitinreaktion nach HEIDELBERGER u. KENDALL bestimmt und die Ergebnisse ausgewertet. Als Basis lagen dieser Arbeit folgende Fragestellungen zugrunde:

1. Besteht ein quantitativer Unterschied zwischen der Antikörperbildung gegen Humanalbumin und der Antikörperbildung gegen jodiertes Humanalbumin?

2. Richtet sich ein Antikörper gegen Jod als neue, in ein körpereigenes Protein eingeführte determinante Gruppe?

II. METHODIK

A) Herstellung der Antigene

Um für den Hauptversuch und eventuell notwendig werdende Wiederholungsversuche sowie für die Ansätze der Präzipitinreaktionen genügend Ausgangsmaterial zur Verfügung zu haben, wurden je 2 g maximal gesättigtes Jodhumanalbumin und Jodkaninchenalbumin nach der Methode von Mc FARLANE (1956) hergestellt. Als Ausgangsmaterial dienten Humanalbumin (Behringwerke, Marburg) und Kaninchenalbumin (Calbiochem, San Diego, Cf).

Die abgewogene Menge wurde jeweils in 28 ml o,o5 m-Glyzinpuffer pH 9 gelöst. Beiden Ansätzen wurden die für die Vollsättigung berechneten Mengen an KJ, KJO_3 und 1,2 ml 1 N-HCL zugegeben. Beim Hinzufügen der Salzsäure flockte Chlorjod in satt-braunen bis schwarzen Wolken aus und das Jod wurde zunächst für die Oxidation der Sulfhydrylgruppen verbraucht. Da das mit den aromatischen Ringen des Albumins reaktionsfähige Hypojodit nur in alkalischem Milieu existieren kann, mußten die Ansätze durch Zugabe von je 5,6 ml 1 N-NaOH alkalisiert werden. Als Zeichen dieser Teilreaktion zwischen dem Hypojodit und dem Protein lösten sich die Jodwolken unter ständigem Rühren allmählich wieder vollständig auf. Nach abgeschlossener Reaktion wurde das überschüssige Jod in einer 72-stündigen Dialyse mit sechsstündigem Wechsel des Dialysebades gegen o,9 %-ige NaCl-Lösung eliminiert.

Die Jodalbuminlösungen wurden lyophilisiert, anschließend entsprechend den erforderlichen 2 %-igen Lösungen abgewogen und erneut in physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Die Jodprotein-Lösungen wurden mit Cialit^R (Asid, München) in einer Konzentration von 1:5ooo konserviert. Um eine Kontrolle über den Erfolg der Jodierung zu haben, mußte der prozentuale Jodgehalt der substituierten Proteine berechnet werden. Dazu wurde ein Probeansatz mit o,2 ml einer auf eine Impulsrate von etwa 3oo ooo Imp/min verdünn-

ten Natriumjodidlösung ^{131}J (Behringwerke, Marburg) vermischt. In Konkurrenz mit dem nichtmarkierten Jodid-Jodat-Gemisch nimmt das radioaktive Natriumjodid ^{131}J an der Reaktion teil, indem es im Verhältnis zum Reaktionsgleichgewicht in das Proteinmolekül eingebaut wird. Durch Vergleich der Impulsausbeute vor und nach dem Reaktionsablauf kann der prozentuale Einbau von ^{131}J in das Eiweiß bestimmt werden. Das Ergebnis steht in direktem Zusammenhang mit dem Gesamtjodgehalt. Nach Berechnung des Mittelwertes aus drei verschiedenen Proben ergab sich für das Humanalbumin ein Jodgehalt von ca. 1o,6 % und für das Kaninchenalbumin von ca. 9,8 %.
Als zusätzlicher Test diente die PB^{127}J-Bestimmung, deren Ergebnisse allerdings insgesamt um 1,5 % niedriger lagen als die der o.a. Methode. Erklären läßt sich dieser Umstand mit der Adhäsion der Jodproteine an den Wänden der Reagenzgläser des Autoanalyzer-Probenwechslers, die sich zwangsläufig bei den notwendigerweise sehr hohen Verdünnungen auf das Ergebnis auswirkt.
Entsprechend dem folgenden Immunisierungsschema (Tabelle 1) wurden Portionen abpipettiert und auf Abruf tiefgefroren.

B) Hyperimmunisierung

Für den Versuch standen 2 x 11 Kaninchen zuzüglich fünf Kontrolltiere beiderlei Geschlechts zur Verfügung. Das Gewicht der Tiere betrug durchschnittlich 45oo g, ihr gesundheitlicher Zustand war bis auf ein Tier durchweg als gut zu bezeichnen. Dieses eine kranke Tier (K_7) zeigte später keinerlei Antikörperbildung.
Die ersten elf Tiere, die gegen Jodhumanalbumin hyperimmunisiert werden sollten, wurden mit H_1 bis H_{11} bezeichnet, die anderen elf mit K_1 bis K_{11}, analog der Immunisierung gegen Jodkaninchenalbumin. Bei beiden Versuchsgruppen wurde parallel zueinander nach folgendem Schema vorgegangen:

1.	Tag:	o,o5 ml	i.v.	
		o,o5 ml	s.c.	7 mg
3.	Tag:	o,1o ml	i.v.	
		o,o5 ml	i.m.	1o mg
5.	Tag:	o,15 ml	i.v.	1o mg
7.	Tag:	o,2o ml	i.v.	14 mg
9.	Tag:	o,25 ml	i.v.	21 mg
11.	Tag:	o,3o ml	i.v.	24 mg
13.	Tag:	o,35 ml	i.v.	26 mg
15.	Tag:	o,4o ml	i.v.	28 mg
17.	Tag:	o,45 ml	i.v.	31 mg
19.	Tag:	o,5o ml	i.v.	35 mg
21.	Tag:	o,55 ml	i.v.	38 mg
23.	Tag:	o,6o ml	i.v.	42 mg
25.	Tag:	o,15 ml	i.v.	1o mg

Tabelle 1: Hyperimmunisierungsschema

Die eingeteilten und tiefgefrorenen Portionen des jeweiligen Tages wurden aufgetaut und die entsprechenden Mengen mit sterilen PRIMO-Record 1 ml Spritzen (A-Sik, Dänemark), die eine für so geringe Mengen erforderliche 1/1oo ml Gradeinteilung aufweisen, aufgezogen. Das Antigen wurde mit Kanülen des Kalibers Nr. 17 (Braun, Melsungen) in die Ohrvene des Kaninchens injiziert.

C) Antikörper-Nachweisreaktionen

1. Ringtest:

Einer ganz groben Beurteilung über das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein von Antikörpern in einem Serum dient der Ringtest (Übersicht bei KABAT u. MAYER, 1961; COOMBS a. GELL, 1963). Zu einem Zeitpunkt, da der Beginn der Antikörperbildung zu erwarten ist (in der Regel um den 9.

bis 12. Tag nach Erstkontakt mit dem Antigen), wird frisch gewonnenes Serum mit o,5 ml der verdünnten Antigenlösung überschichtet. Nach Inkubation im Wasserbad bei 35 °C ist bei Anwesenheit des vermuteten Antikörpers an der Kontaktfläche der beiden Flüssigkeiten eine trübe Präzipitatscheibe zu sehen. Allerdings ist diese Nachweisreaktion zahlreichen Unsicherheitsfaktoren unterworfen und spricht erst bei erheblichen Antikörpertitern an.

2. Präzipitinreaktion:

Im Gegensatz zum Ringtest läßt sich durch das Verfahren nach HEIDELBERGER und KENDALL der relative Antikörpertiter exakt bestimmen. Im Prinzip werden zu konstanten Antikörperlösungen steigende Mengen des entsprechenden Antigens zugegeben. Die quantitative Messung des gebildeten Antigen-Antikörper-Komplexes erfolgt durch Vermischung des Antigens mit ^{131}J-Humanalbumin (Behringwerke, Marburg). Die Radioaktivität der Antigen-Antikörper-Ansätze wird vor und nach einer Waschung mit o,9 %-iger NaCl-Lösung gemessen. Nach der Waschung wird der radioaktive Komplex durch hochtouriges Zentrifugieren abgesetzt und durch vorsichtiges Dekantieren von der Restaktivität, die keine Präzipitinreaktion eingegangen war, getrennt.
Zur Ausführung der Nachweisreaktion mußten Antiseren gewonnen und Antigen-Verdünnungsreihen hergestellt werden.

a) Antiseren

Nach Abschluß der Hyperimmunisierung wurden aus den Ohrarterien der Kaninchen mit Einmalspritzen 1o ml und Einmalkanülen vom Kaliber Nr. 1 (B. Braun,Melsungen AG) im Durchschnitt etwa 8 ml Blut pro Tier entnommen und sofort für 1o min bei 9oo g zentrifugiert. Kaninchen H_{1o} und H_{11} verendeten am 13. bzw. 23. Tag der Hyperimmunisierung noch während der Injektion an einer anaphylaktischen Schockreaktion. Die Blutentnahme erfolgte in diesen beiden Fällen

kurz vor Eintritt des Todes. Die humoralen Blutbestandteile wurden nach dem Zentrifugieren dekantiert und bis zur Auswertung tiefgefroren.

b) Antigenlösungen

Die zur Markierung dienende ^{131}J-Humanalbuminlösung (Beringwerke, Frankfurt) wies eine Anfangsradioaktivität von etwa 6,5 x $1o^{6}$ Imp/min auf. Sie mußte zunächst mit physiologischer Kochsalzlösung auf Aktivitäten geeigneter Größenordnung verdünnt werden, um in den günstigsten Meßbereich des Szintillationszählers zu gelangen.

Als Antigenstammlösungen wurden folgende Ansätze hergestellt:

-- Eine 2 %-ige Lösung jodiertes Humanalbumin, im Verhältnis 1:2 mit einer Lösung von radioaktivem ^{131}J-Humanalbumin verdünnt.

-- Eine 2 %-ige Lösung nicht-jodiertes Humanalbumin, im Verhältnis 1:2 mit einer Lösung von radioaktivem ^{131}J-Humanalbumin verdünnt.

-- Eine 2 %-ige Lösung, zusammengesetzt aus einem Teil nicht-jodiertem Humanalbumin und drei Teilen jodiertem Kaninchenalbumin, ebenfalls verdünnt mit ^{131}J-Humanalbumin.

Von diesen radioaktiven Stammlösungen wurden geometrische Verdünnungsreihen abnehmender Konzentration nach folgendem Schema hergestellt:

a)	1oo µl Stammlsg.	+ 1oo µl	o,9%NaCl-Lsg.	= 1: 4	5ooo ng Alb./µl
b)	1oo µl Lsg. $a_{)}$	+ 1oo µl	o,9%NaCl-Lsg.	= 1: 8	25oo ng Alb./µl
c)	1oo µl Lsg. $b_{)}$	+ 1oo µl	o,9%NaCl-Lsg.	= 1: 16	125o ng Alb./µl
d)	1oo µl Lsg. $c_{)}$	+ 1oo µl	o,9%NaCl-Lsg.	= 1: 32	625 ng Alb./µl
e)	1oo µl Lsg. $d_{)}$	+ 1oo µl	o,9%NaCl-Lsg.	= 1: 64	312 ng Alb./µl
e')	1oo µl Lsg. $e_{)}$	+ 1oo µl	o,9%NaCl-Lsg.	= 1:128	156 ng Alb./µl
e'')	1oo µl Lsg. $e'_{)}$	+ 1oo µl	o,9%NaCl-Lsg.	= 1:256	78 ng Alb./µl
f)	1oo µl Stammlsg.	+ 1oo µl	o,9%NaCl-Lsg.	= 1: 6	3333 ng Alb./µl
g)	1oo µl Lsg. $f_{)}$	+ 1oo µl	o,9%NaCl-Lsg.	= 1: 12	1665 ng Alb./µl
h)	1oo µl Lsg. $g_{)}$	+ 1oo µl	o,9%NaCl-Lsg.	= 1: 24	832 ng Alb./µl
i)	1oo µl Lsg. $h_{)}$	+ 1oo µl	o,9%NaCl-Lsg.	= 1: 48	416 ng Alb./µl
k)	1oo µl Lsg. $i_{)}$	+ 1oo µl	o,9%NaCl-Lsg.	= 1: 96	2o8 ng Alb./µl
k')	1oo µl Lsg. $k_{)}$	+ 1oo µl	o,9%NaCl-Lsg.	= 1:192	1o4 ng Alb./µl
k'')	1oo µl Lsg. $k'_{)}$	+ 1oo µl	o,9%NaCl-Lsg.	= 1:284	52 ng Alb./µl

Tabelle 2: Verdünnungsreihe

c) Messungen

Jeweils 5o µl der einzelnen Ansätze wurden in 5 ml-Plastik-Zentrifugengläschen, die gleichzeitig die spätere Menge an Waschlösung (NaCl) aufzunehmen vermochten, pipettiert und mit je 5o µl Antikörperlösung gemischt. Nach 3o-minütiger Inkubation im Wasserbad bei 35 °C wurde die Radioaktivität der Ansätze zweimal eine Minute lang gemessen und aus beiden Werten nach Abzug des Nullwertes das Mittel gebildet.

Die Präzipitate wurden in o,9 %-iger NaCl-Lösung suspendiert und 1o min bei 2ooo g zentrifugiert. Die Überstände wurden dekantiert und verworfen. Nach der Waschung mit 5 ml NaCl-Lösung wurde die Radioaktivität des Sedimentes gemessen und in Prozenten der Aktivität vor der Waschung angegeben.

Für jeden Ansatz ergaben sich drei Meßergebnisse:

1. Aktivität des Ansatzes vor dem Waschen =
   vorgelegte Antigenmenge (Imp/min)

2. Aktivität des Sedimentes nach dem Waschen =
   absolute Radioaktivität (Imp/min)

3. $\frac{\text{Aktivität nach dem Waschen} \times 1oo}{\text{Aktivität vor dem Waschen}}$ =
   prozentuale Radioaktivität (%)

Für die Präzipitinreaktion wurden Antiseren und Antigene folgendermaßen miteinander kombiniert:

Gruppe	Antiseren d. Tiere	Antigen	s. Abbildung
I	H_1 - H_{11}	jodiertes HA + 131-J-HA	1 - 6
II	H_1 - H_{11}	nicht-jod.HA + 131-J-HA	1 - 6
III	K_1 - K_{11}	jodiertes HA+) + 131-J-HA	Tab.4,5,6,7,8
IV	H_1 - H_{11}	1 Teil nicht-jod.HA 3 Teile jodiertes KA	7a - 11a 7b - 11b

Tabelle 3: Zusammenstellung der Präzipitinreaktionen

+) Da kein radioaktiv markiertes Kaninchenalbumin zur Verfügung stand, diente für diesen Versuch zum Nachweis einer Kreuzreaktion des Jod-tyrosyl-Haptens ebenfalls 131-J-Humanalbumin als Antigenstammlösung

HA = Humanalbumin KA = Kaninchenalbumin

3. Immunologische Absorption zum Nachweis einer Kreuzreaktion von antigenen Jodaminosäuren:

Grundsätzlich handelt es sich gleichfalls wieder um eine Präzipitinreaktion nach HEIDELBERGER und KENDALL, wobei jedoch speziell die blockierende Wirkung des Haptens gemessen wird. Nach LANDSTEINER (1947) ist ein niedermolekulares Hapten in geeigneter Konzentration in der Lage, seine homologe antigene Determinante vom Bindungsbereich am Antikörper zu verdrängen und damit ein Antigen-Antikörper-Präzipitat aufzulösen. Die gleiche Wirkung ist von einem Konjugat aus niedermolekularem Hapten und heterologem, nicht zur Immunisierung verwendetem Protein zu erwarten (WILLIAMS a. CHASE, 1967).

Bei Existenz eines spezifisch gegen Jod, Jodaminosäuren oder Jodpeptidgruppen gerichteten Antikörpers müßte das im Überschuß (drei Teile Kaninchenalbumin + ein Teil nicht-jodiertes Humanalbumin) zugegebene Jodkaninchenalbumin das nicht-jodierte Humanalbumin zusammen mit dem ^{131}J-Humanalbumin aus der Bindung mit dem Antikörper verdrängen.
Das Resultat wäre eine Abnahme der absoluten Radioaktivität, ein Vorgang, der in der Immunologie allgemein als "Absorption" bezeichnet wird.

4. Graphische Darstellung und Auswertung

Die aus den Aktivitätsmessungen resultierenden Werte wurden graphisch in Form von "HEIDELBERGER-Kurven" auf Millimeterpapier dargestellt. Die Abszisse gibt die einzelnen Verdünnungsstufen in ng Albumin/µl an, auf den drei Ordinaten sind einmal die vorgelegte Antigenmenge, die absolute Radioaktivität und schließlich die prozentuale Radioaktivität aufgetragen.
Werden nun die "HEIDELBERGER-Kurven" aus den Versuchgruppen I und II übereinanderprojiziert und miteinander ver-

glichen (siehe auch Abb. 1 - 6), so kann aus der Differenz jeweils zweier zugehöriger Kurven in Bezug auf Verlauf und Maxima-Minima-Punkte auf das Ausmaß der Antikörperbildungs-Änderung durch die Jodierung geschlossen werden.

Ein Vergleich der Kurven zu Versuchsgruppe IV mit denen aus Gruppe II (Abb. 7a - 11a und Abb. 1 - 6) gestattet eine Aussage über das Vorhandensein spezifisch gegen Jod gerichteter Antikörper.

Im Falle einer Linksverschiebung der Kurven IV gegenüber den Kurven II wäre eine Verdrängung, also eine Hemmung der Präzipitinreaktion und damit die Anwesenheit der vermuteten Jod-Antikörper wahrscheinlich (Abb. 7b - 11b).

III. ERGEBNISSE

1. Ringtest

Am 13., 15., 17., 19. und 21. Tag der Hyperimmunisierung wurden Antiseren grob auf ihren Gehalt an Antikörpern untersucht. Unter den Seren der Versuchsgruppe K_1 - K_{11} zeigten nur die Tiere K_5 und K_6 einen Hauch von Präzipitat an den Grenzflächen der beiden überschichteten Flüssigkeiten und zwar nur am 19. Tag.

Ergiebiger war der Test bei den Seren der Versuchsreihe H_1 - H_{11}. Hier zeigten die Seren der Tiere H_{11}, H_7 und H_6 bereits am 13. Tag, de von H_4 und H_3 ab dem 17. Tag eine eindeutig positive Reaktion.

2. Präzipitinreaktion

a) Gruppe I und II (Abb. 1 - 6)

Die Antiseren der Versuchsgruppe H_1 - H_{11} (sensibilisiert gegen jodiertes Humanalbumin) vermochten sowohl das homologe Antigen als auch das nicht-jodierte Humanalbumin zu fällen. Fünf der elf Tiere dieser Reihe (H_1, H_2, H_5, H_8, H_{10}) zeigten keine, bestenfalls nur in Spuren angedeutete Antikörperbildung. Diese Versagerquote entspricht durchaus den Statistiken über immunologische Versuche mit Kaninchen. Diese fünf nicht verwertbaren Antiseren seien nur für die Statistik erwähnt, in den Tabellen und Abbildungen sind sie nicht aufgeführt.
Die Seren der übrigen Tiere lieferten zum Teil sehr gute Antikörpertiter, wobei die Titer gegen das homologe, jodierte Antigen durchweg höher lagen als gegen das native Antigen. Außerdem zeigten sich auch erhebliche Differenzen im Kurvenverlauf. So zum Beispiel trat für das native Antigen mit abnehmender Antikörperbildungsfähigkeit der einzelnen Tiere zunehmend eine Mehrgipfligkeit der absoluten Radioaktivität auf.

b) Gruppe III (Tabellen 4, 5, 6, 7, 8)

Um den Gehalt an jodspezifischen Antikörpern nachzuweisen, wurden die Antiseren der gegen jodiertes Kaninchenalbumin sensibilisierten Tiere K_1 - K_{11} mit jodiertem Humanalbumin versetzt. Keines der Seren erreichte signifikante Werte, doch ließen fünf Tiere (K_1, K_3, K_5, K_6, K_8) eindeutig Antikörperbildung erkennen.
Im Falle der Tiere K_5 und K_6 stieg die prozentuale Radioaktivität bis etwa 8 % an, bei den Tieren K_1, K_3 und K_8 jedoch nur bis etwa 5 %, doch deuteten die absoluten Radioaktivitäten hier ebenfalls mehrere Gipfelpunkte an.

c) Gruppe IV - Absorption - (Abb. 7a+b - 11a+b)

Dem weiteren Nachweis jodspezifischer Antikörper diente die Verdrängungsreaktion. Aus dem Vergleich der Präzipitinkurven der Gruppe IV mit denen der Gruppe II ist in fünf der insgesamt elf Fällen eine signifikante Hemmung in Form einer Linksverschiebung zu erkennen, die durch die Verdrängung eines Teils der nicht-jodierten Humanalbuminantigene aus dem Rezeptorbereich des spezifischen Jodantikörpers durch jodiertes Kaninchenalbumin verursacht wurde. Je schwächer die Antikörperbildung des Kaninchens ausgeprägt war, desto stärker kam die Hemmung zum Tragen.

Nicht unerwähnt bleiben soll eine Randerscheinung dieses Tierversuches, die während der Hyperimmunisierung der Kaninchen auftrat. Ab dem 15. Immunisierungstag traten an den Ohrarterien der Kaninchen Verdickungen auf, die als derbe Knötchen entlang des Gefäßes zu tasten waren. Möglicherweise handelte es sich dabei um Periarteriitis nodosa, eine allergische Reaktion als Antwort auf die ständig sich wiederholenden Injektionen von Antigenen (RASSMUSSEN, 1955; RICH, 1959).

IV. TABELLEN UND ABBILDUNGEN

Kaninchen K_1 (immunisiert geg. jodiertes Kaninchenalbumin)

AG: jodiertes Humanalbumin

AK: Antiserum (jeweils 5o µl)

Imp/min: Impulse/min

ng	Alb./ul	Verdünnung der Antistammlösung	vorgelegte Antigenmenge (Imp/min)	absolute Aktivität (Imp/min)	prozentuale Aktivität (%)
a	5ooo	1 : 4	4291oo	1543	o,35
f	3333	1 : 6	282283	6o5	o,21
b	25oo	1 : 8	215829	739	o,34
g	1665	1 : 12	14o953	4o2	o,28
c	125o	1 : 16	1o7297	227	o,25
h	832	1 : 24	71586	516	o,72
d	625	1 : 32	53411	389	o,72
i	416	1 : 48	35833	364	1,o1
e	312	1 : 64	26333	291	1,1
k	2o8	1 : 96	18484	395	2,13
e'	156	1 : 128	13273	423	3,19
k'	1o4	1 : 192	9322	387	4,15
e''	78	1 : 256	6687	3o4	4,55
k''	52	1 : 284	3948	288	5,o3

Nullwert: 64 (bereits abgezogen)

Tabelle 4 Ergebnisse der Gruppe III

Das Antiserum dieses Kaninchens erreichte eine Präzipitatquote von nur 5 %, doch sind bei den Verdünnungsstufen b, h und e eindeutige Gipfel zu erkennen.

Kaninchen K_3 (immunisiert geg. jodiertes Kaninchenalbumin)

AG: jodiertes Humanalbumin

AK: Antiserum (jeweils 5o µl)

Imp/min: Impulse/min

ng	Alb./ul	Verdünnung der Antistammlösung	vorgelegte Antigenmenge (Imp/min)	absolute Aktivität (Imp/min)	prozentuale Aktivität (%)
a	5ooo	1 : 4	4328o3	1332	o,3o
f	3333	1 : 6	271883	1167	o,42
b	25oo	1 : 8	216382	77o	o,45
g	1665	1 : 12	136o48	1o26	o,75
c	125o	1 : 16	1o82o7	484	o,44
h	832	1 : 24	69738	556	o,73
d	625	1 : 32	53631	238	o,44
i	416	1 : 48	35876	453	1,26
e	312	1 : 64	263o8	441	1,67
k	2o8	1 : 96	17597	376	2,13
e'	156	1 : 128	13127	442	3,36
k'	1o4	1 : 192	8936	365	4,o5
e''	78	1 : 256	6723	296	4,45

Nullwert: 64 (bereits abgezogen)

Tabelle 5 Ergebnisse der Gruppe III

Das Antiserum dieses Tieres wies die geringste nennenswerte Antikörpermenge auf, doch ist die Mehrgipfligkeit der absoluten Radioaktivität hier am ausgeprägtesten.

Kaninchen K_5 (immunisiert geg. jodiertes Kaninchenalbmin)

AG: jodiertes Humanalbumin

AK: Antiserum (jeweils 5o µl)

Imp/min: Impulse/min

ng	Alb./ul	Verdünnung der Antistammlösung	vorgelegte Antigenmenge (Imp/min)	absolute Aktivität (Imp/min)	prozentuale Aktivität (%)
a	5ooo	1 : 4	426426	1754	o,41
f	3333	1 : 6	274686	829	o,3o
b	25oo	1 : 8	212oo6	731	o,34
g	1665	1 : 12	135376	657	o,48
c	125o	1 : 16	1o6o34	567	o,53
h	832	1 : 24	68315	42o	o,61
d	625	1 : 32	52564	355	o,67
i	416	1 : 48	339o9	352	1,o3
e	312	1 : 64	2541o	338	1,33
k	2o8	1 : 96	17221	49o	2,84
e'	156	1 : 128	13o23	571	4,4o
k'	1o4	1 : 192	8733	688	7,92
e''	78	1 : 256	6589	52o	8,oo

Nullwert: 64 (bereits abgezogen)

Tabelle 6 Ergebnisse der Gruppe III

Dieses Tier wies den höchsten Antikörpertiter auf, die Mehrgipfligkeit ist am schwächsten ausgeprägt.

Kaninchen K_6 (immunisiert geg. jodiertes Kaninchenalbumin

AG: jodiertes Humanalbumin

AK: Antiserum

Imp/min: Impulse/min

ng	Alb./ul	Verdünnung der Antistammlösung	vorgelegte Antigenmenge (Imp/min)	absolute Aktivität (Imp/min)	prozentuale Aktivität (%)
a	5ooo	1 : 4	422317	1436	o,34
f	3333	1 : 6	267783	1o44	o,38
b	25oo	1 : 8	21o686	786	o,37
g	1665	1 : 12	132o32	7oo	o,53
c	125o	1 : 16	1o49o5	6o5	o,57
h	832	1 : 24	671o6	439	o,65
d	625	1 : 32	49955	263	o,52
i	416	1 : 48	33298	457	1,37
e	312	1 : 64	24297	324	1,33
k	2o8	1 : 96	17166	5o5	2,94
e^{I}	156	1 : 128	12627	623	4,9o
k^{I}	1o4	1 : 192	8663	735	8,51
e^{II}	78	1 : 256	6339	428	6,8o

Nullwert: 64 (bereits abgezogen)

Tabelle 7 Ergebnisse der Gruppe III

Tier mit dem zweithöchsten Antikörpertiter.

Kaninchen K_8 (immunisiert geg. jodiertes Kaninchenalbumin)

AG: jodiertes Humanalbumin

AK: Antiserum (jeweils 5o µl)

Imp/min: Impulse/min

mg Alb. ml	Verdünnung der Antistammlösung	vorgelegte Antigenmenge (Imp/min)	absolute Aktivität (Imp/min)	prozentuale Aktivität (%)
a 5ooo	1 : 4	438638	1462	o,33
f 3333	1 : 6	27o456	1o15	o,37
b 25oo	1 : 8	234654	787	o,33
g 1665	1 : 12	134663	669	o,49
c 125o	1 : 16	115728	57o	o,49
h 832	1 : 24	65259	528	o,8o
d 625	1 : 32	5878o	438	o,74
i 416	1 : 48	34o6o	423	1,24
e 312	1 : 64	27523	4o6	1,47
k 2o8	1 : 96	16967	4o1	2,36
e^I 156	1 : 128	13329	466	3,5o
k^I 1o4	1 : 192	8473	398	4,72
e^{II} 78	1 : 256	67o4	366	5,54

Nullwert: 64 (bereits abgezogen)

Tabelle 8 Ergebnisse der Gruppe III

Dieses Tier wies durchschnittliche Werte auf, Antikörpertiter und Mehrgipfligkeit halten sich die Waage.

ABBILDUNGEN

Zu Abb. 1 - 6 : Diese Abbildungen zeigen quantitative Präzipitinreaktionen bei sechs von elf gegen hochjodiertes Humanalbumin hyperimmunisierten Kaninchen. Angegeben sind die absoluten Radioaktivitätsmessungen in den gewaschenen Antigen-Antikörper-Präzipitaten sowie deren prozentuale Radioaktivitäten, jeweils in Prozenten der vorgelegten Antigenmengen. Der Anschaulichkeit wegen wurden die Präzipitinkurven für das homologe und das nicht-jodierte Antigen übereinanderprojiziert, um eine etwaige Kreuzreaktion sofort erkennen zu können.

Da die Kaninchen in Abb. 1, 2 und 5 nur einen niedrigtitrigen Antikörper produziert hatten, konnte selbst bei sehr niedrigen Antigenkonzentrationen nicht mehr als 12 - 16 % des Antigens präzipitiert werden.
Der Anstieg der absoluten Aktivität im Antigenüberschußbereich ist wahrscheinlich weniger meßtechnisch bedingt, vielmehr handelt es sich hierbei um einen uneinheitlichen Antikörper (Ansätze an verschiedenen Tagen hergestellt). Die hochtitrigen Tiere in Abb. 3, 4 und 6 weisen einen einheitlicheren Antikörper auf, die Kurven laufen flach und gleichmäßig aus.
Am Ende des Antikörperüberschusses besitzen die absoluten Aktivitäten für das homologe Antigen einen eindeutigen, stei-

len Gipfel, während die Kurven für das nicht-jodierte Antigen durchweg abgeflachter sind.
Dies ist als Symptom der immunologischen Kreuzreaktion aufzufassen.
AG = Antigen AK = Antikörper

Zu Abb. 7a - 11a: Diese Abbildungen zeigen die zu den in Abb. 1 - 6 aufgeführten Antiseren zugehörigen Kurven für die Absorptionsmessungen. Da für diesen Meßansatz ein Teil nicht-jodiertes Humanalbumin mit drei Teilen des jodierten Kaninchenalbumins versetzt wurde, sind die Gipfel der absoluten Radioaktivitäten vergleichsweise abgeflachter und stark nach rechts in den Antigenüberschußbereich verschoben.
Die Rechtsverlagerung erklärt sich aus der 1:4 Verdünnung des nativen Antigens durch das jodierte Kaninchenalbumin.
Die Abflachung und Verbreiterung der Gipfel aber ist ein Hinweis auf die modifizierende Wirkung der Jodgruppen im arteigenen Eiweißmolekül.
Entsprechend den Antikörpern der einzelnen Tiere nehmen diese Veränderungen am Kurvenverlauf mit steigendem Titer immer größere Ausmaße an. Angefangen bei Kaninchen H_4 mit noch spitzem, im Bereich hoher Antigenverdünnung liegendem Gipfel, nimmt die Veränderung bei H_3, H_6 und H_7 mehr und mehr zu und erreicht bei Kaninchen H_{11} ihren Höhepunkt.

Zu Abb. 7b - 11b: In diesen Abbildungen wurde versucht, die hemmende Wirkung der Jodgruppen des

Kaninchenalbumins während einer Präzipitinreaktion in Konkurrenz mit dem nicht-jodierten Humanalbumin darzustellen. Dazu wurden die prozentualen Radioaktivitäten aus beiden Reaktionen einander gegenübergestellt.
Nach Umrechnung auf die eigentliche Humanalbuminkonzentration wären bei indifferentem Jodkaninchenalbumin die beiden Kurven identisch.
In diesen fünf Fällen jedoch ist eine Linksverschiebung (= Hemmung) zu erkennen, die bei den niedrigtitrigen Antiseren H_3 (siehe Abb. 7b) und H_4 (siehe Abb. 8b) am stärksten ausgeprägt ist.

Abb: 1

KANINCHEN H_3

AG: jodiertes Humanalbumin ----- } + [131]-Humanalbumin
nicht-jod. Humanalbumin ——— }

AK: Antiserum gegen jod. Humanalbumin

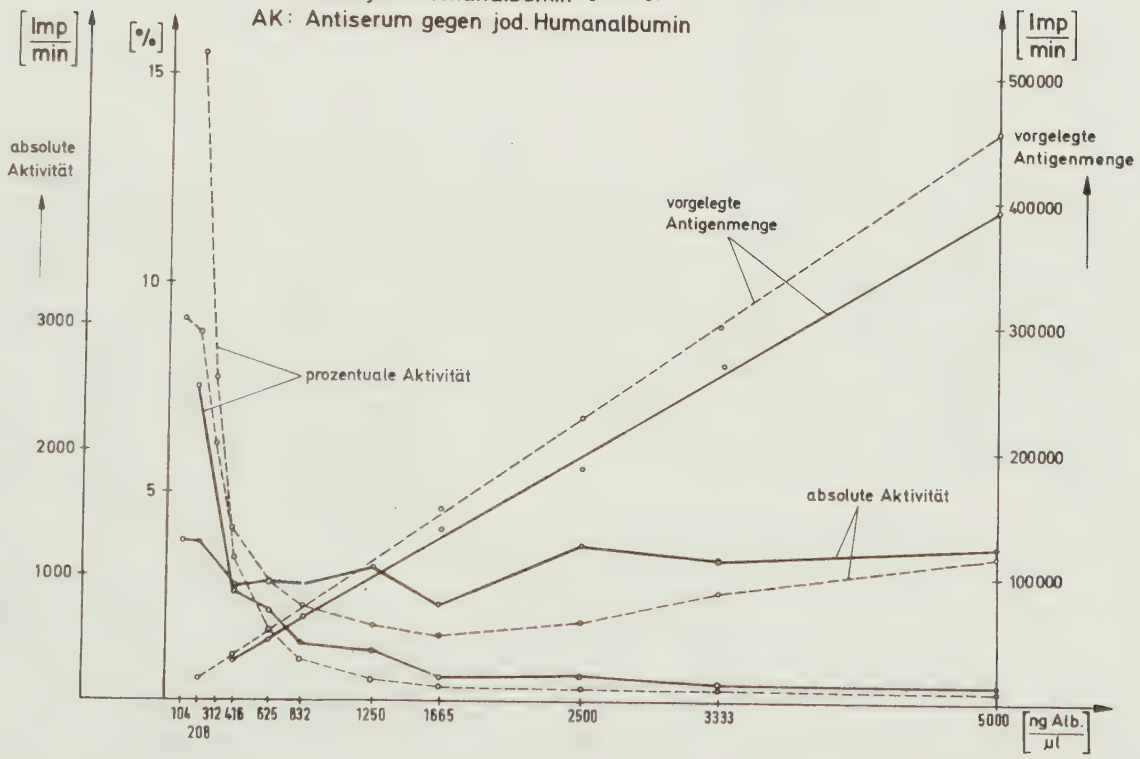


Abb: 2

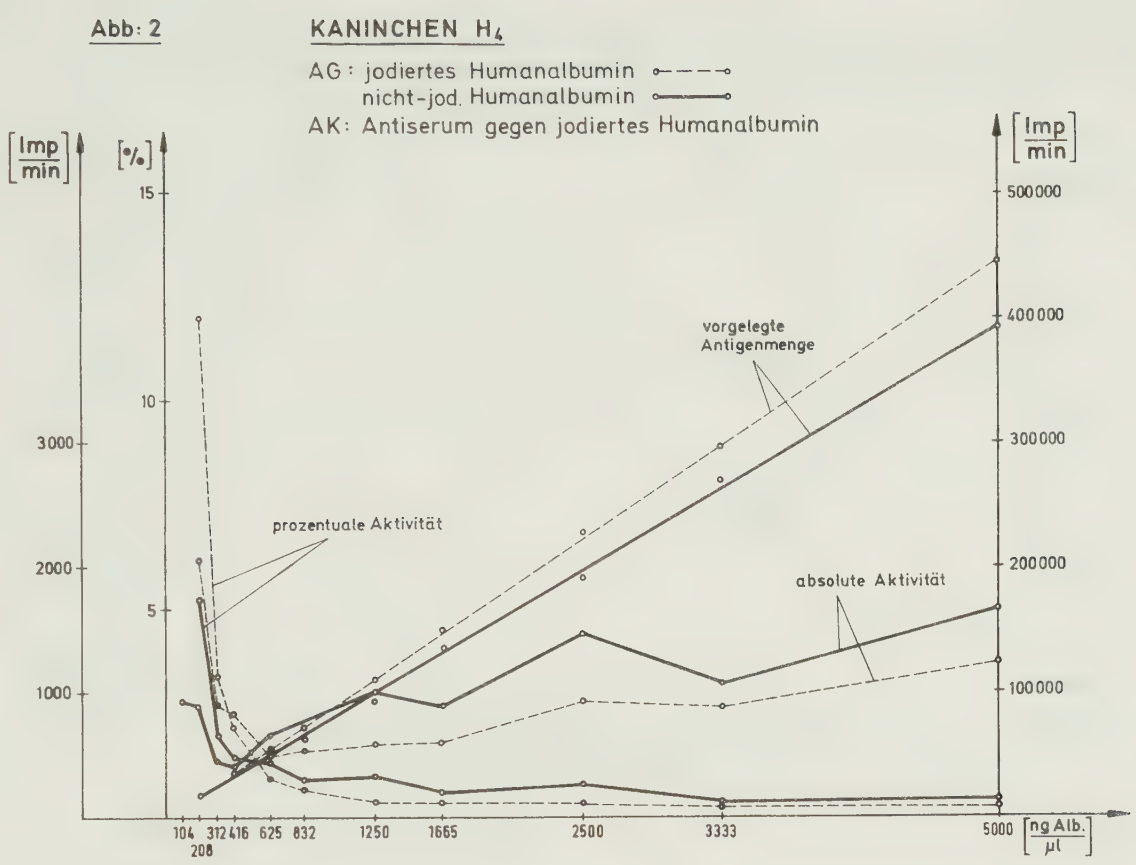

KANINCHEN H4
AG: jodiertes Humanalbumin
nicht-jod. Humanalbumin
AK: Antiserum gegen jodiertes Humanalbumin
[Imp/min]
[%]
15
10
5
3000
2000
1000
500000
400000
300000
200000
100000
vorgelegte Antigenmenge
prozentuale Aktivität
absolute Aktivität
104
208
312
416
625
832
1250
1665
2500
3333
5000
[ng Alb./µl]

Abb. 3

KANINCHEN H_6

AG: jodiertes Humanalbumin
nicht-jod. Humanalbumin
AK: Antiserum gegen jodiertes Humanalbumin

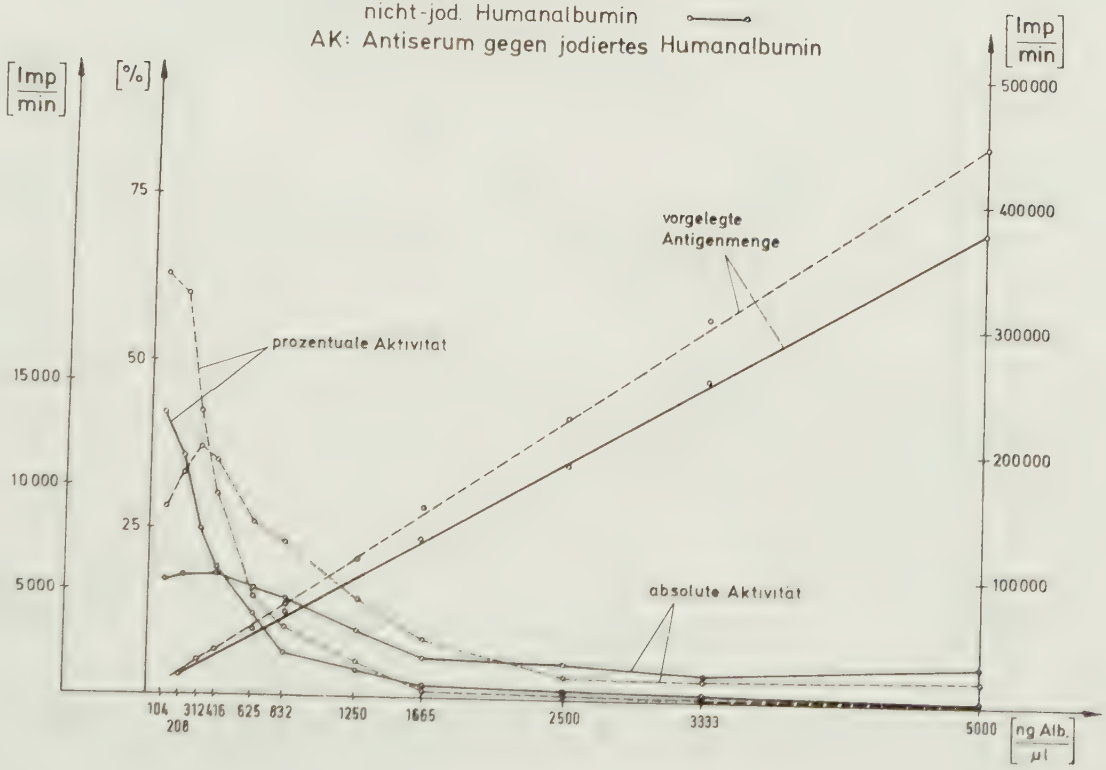


Abb: 4

KANINCHEN H_7

AG: jodiertes Humanalbumin
nicht-jod. Humanalbumin
AK: Antiserum gegen jodiertes Humanalbumin

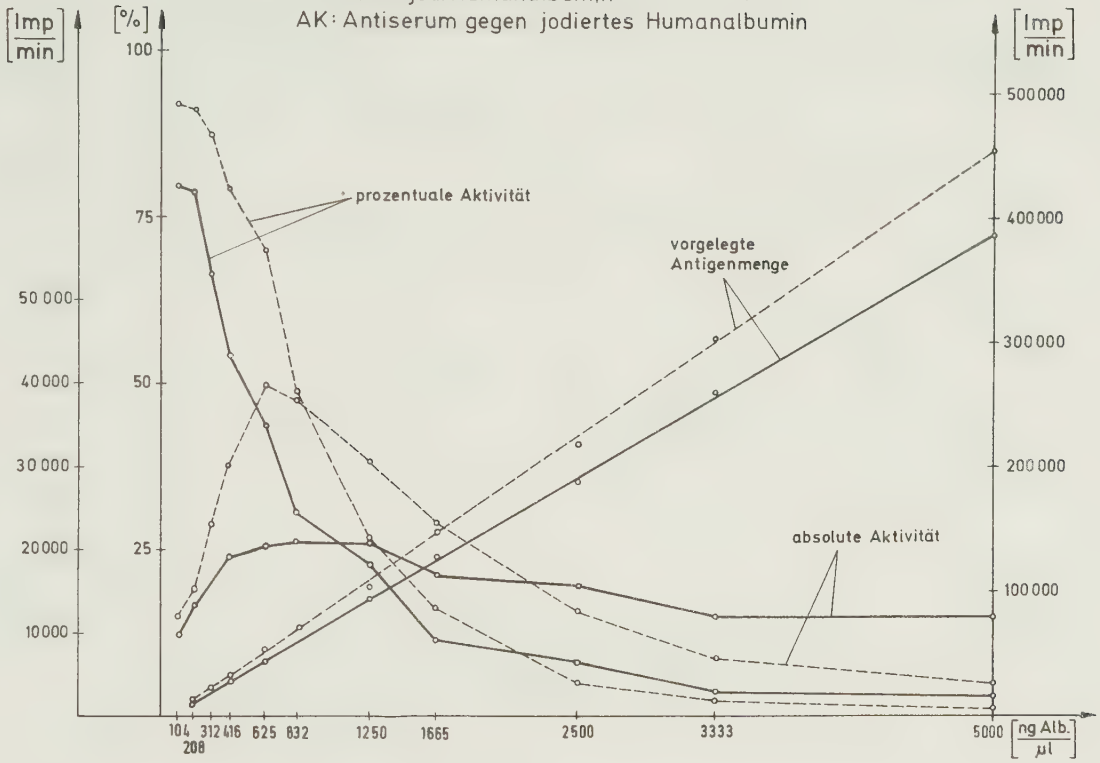


Abb: 5

KANINCHEN H_9

AG: jodiertes Humanalbumin
nicht-jod. Humanalbumin
AK: Antiserum gegen jodiertes Humanalbumin

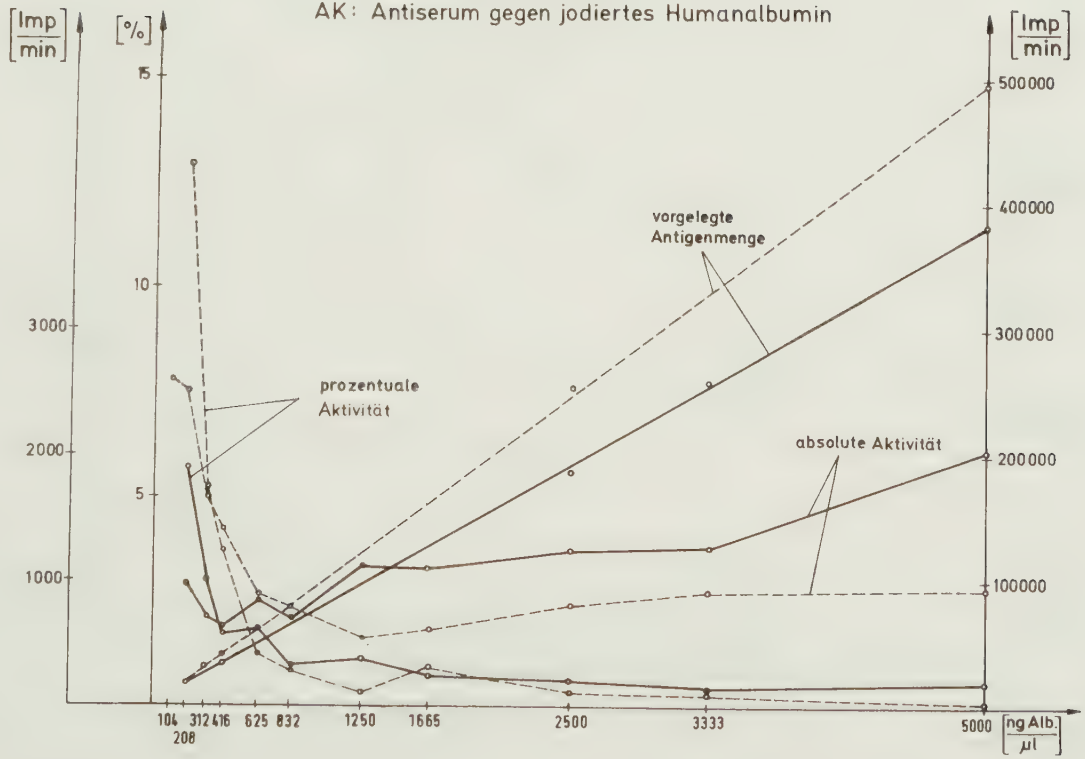


Abb: 6

KANINCHEN H_{11}

AG: jodiertes Humanalbumin
nicht-jod Humanalbumin
AK: Antiserum gegen jodiertes Humanalbumin

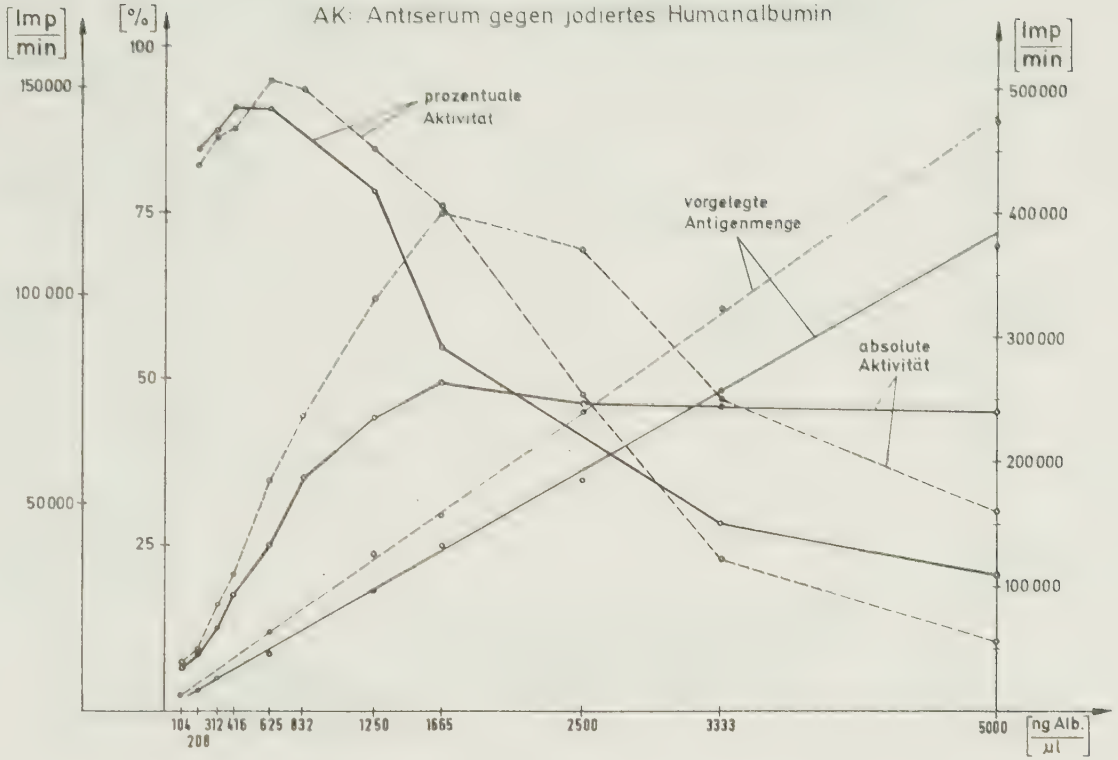


Abb: 7a **KANINCHEN H_3**

„Absorption"

AG: 1 Teil nicht-jod. Humanalbumin
3 Teile jodiertes Kaninchenalbumin
AK: Antiserum gegen jod. Humanalbumin

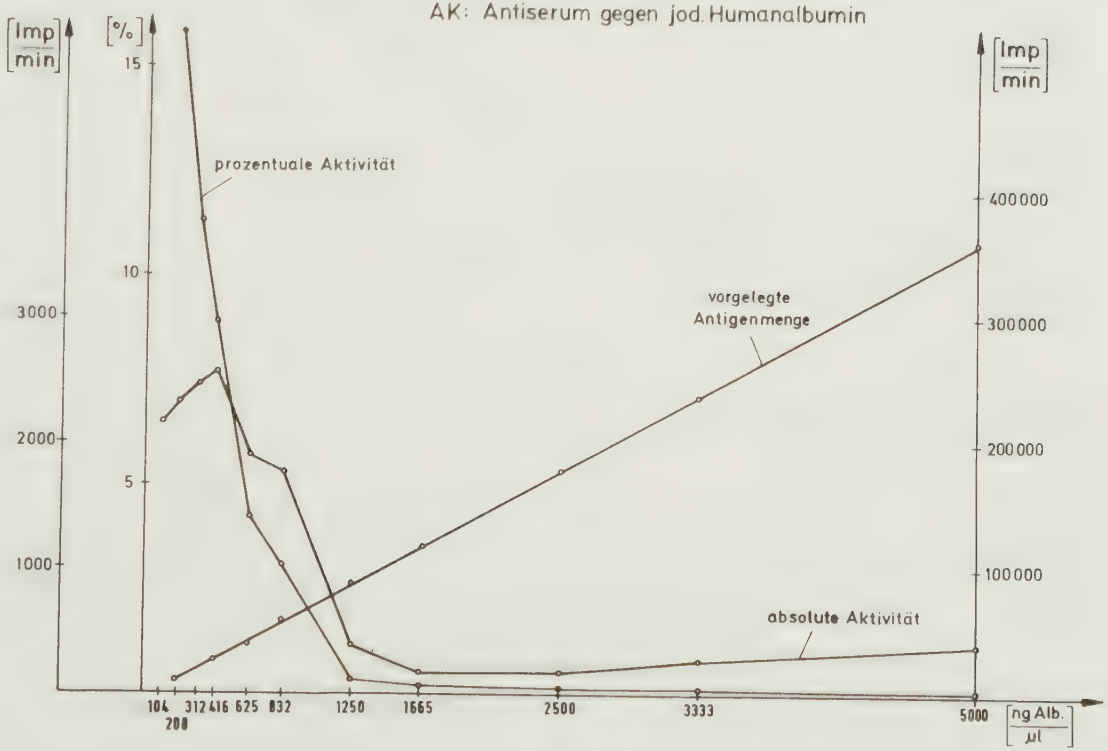


Abb: 7b KANINCHEN H_3

„Prozentuale Aktivität" AG: nicht-jodiertes Humanalbumin ----
1 Teil nicht-jod. Humanalbumin ——
3 Teile jodiertes Kaninchenalbumin
(nach Umrechnung auf entspr. Verdünnung)

Abb: 8a KANINCHEN H_4

„Absorption" AG: 1 Teil nicht-jod. Humanalbumin
3 Teile jodiertes Kaninchenalbumin
AK: Antiserum gegen jod. Humanalbumin

Abb: 8b KANINCHEN H_4

„Prozentuale Aktivität"

AG : nicht-jodiertes Humanalbumin
1 Teil nicht-jod. Humanalbumin
3 Teile jodiertes Kaninchenalbumin
(nach Umrechnung auf entspr. Verdünnung)

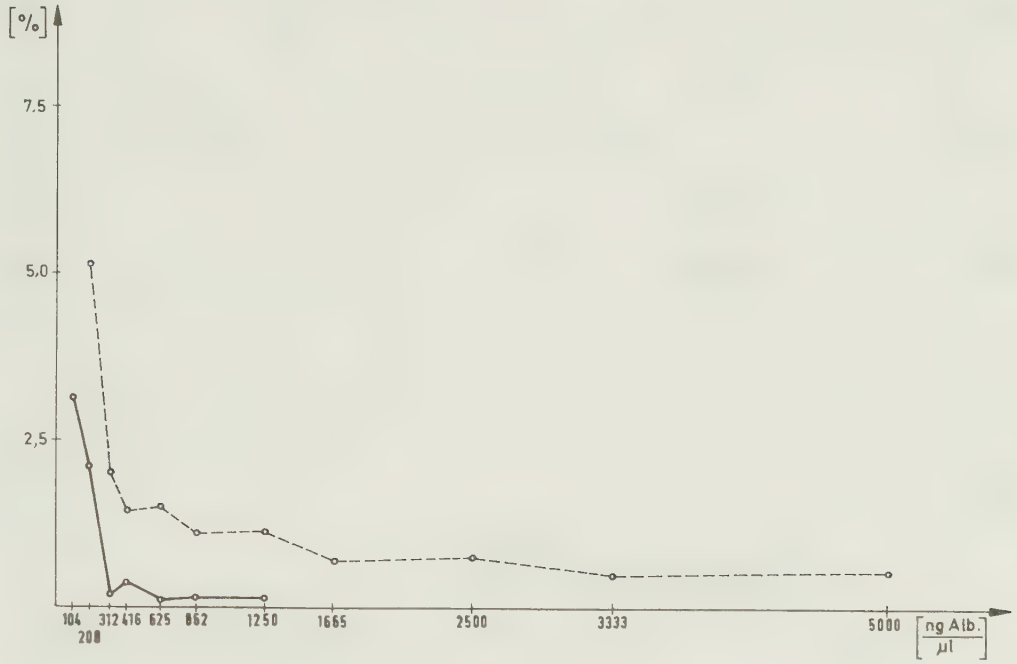


Abb:9a KANINCHEN H_6

„Absorption" AG : 1 Teil nicht-jod.Humanalbumin
3 Teile jodiertes Kaninchenalbumin
AK : Antiserum gegen jod.Humanalbumin

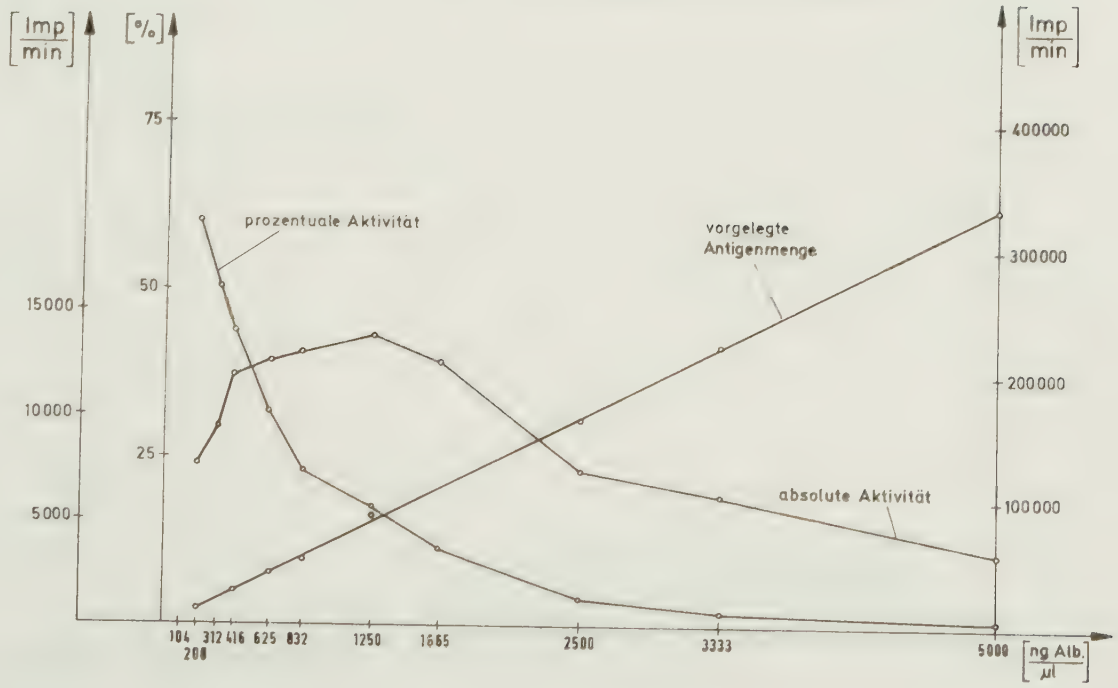


Abb: 9b **KANINCHEN H_6**

„Prozentuale Aktivität" AG: nicht-jodiertes Humanalbumin o- - - -o
1 Teil nicht-jod. Humanalbumin o——o
3 Teile jodiertes Kaninchenalbumin
(nach Umrechnung auf entspr. Verdünnung)

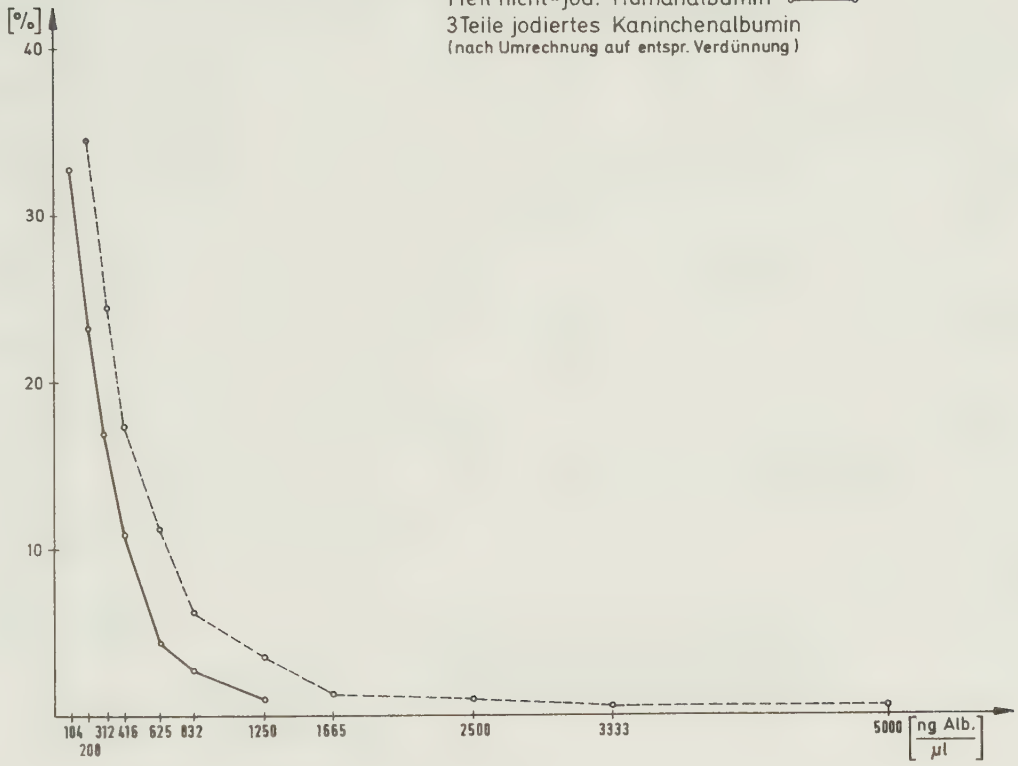


Abb: 10a

KANINCHEN H_7

„Absorption"

AG: 1 Teil nicht-jodiertes Humanalbumin
3 Teile jodiertes Kaninchenalbumin
AK: Antiserum gegen jod. Humanalbumin

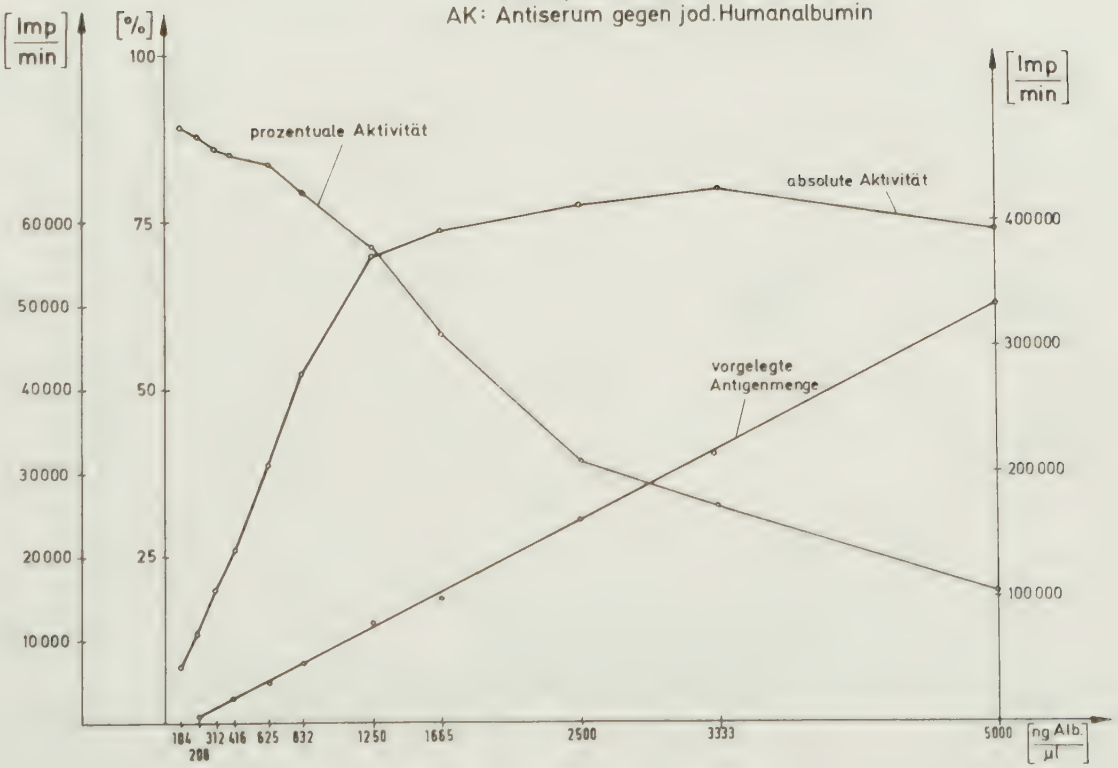


Abb: 10b **KANINCHEN H_7**

„Prozentuale Aktivität" AG: nicht-jodiertes Humanalbumin
1 Teil nicht-jod. Humanalbumin
3 Teile jodiertes Kaninchenalbumin
(nach Umrechnung auf entspr. Verdünnung)

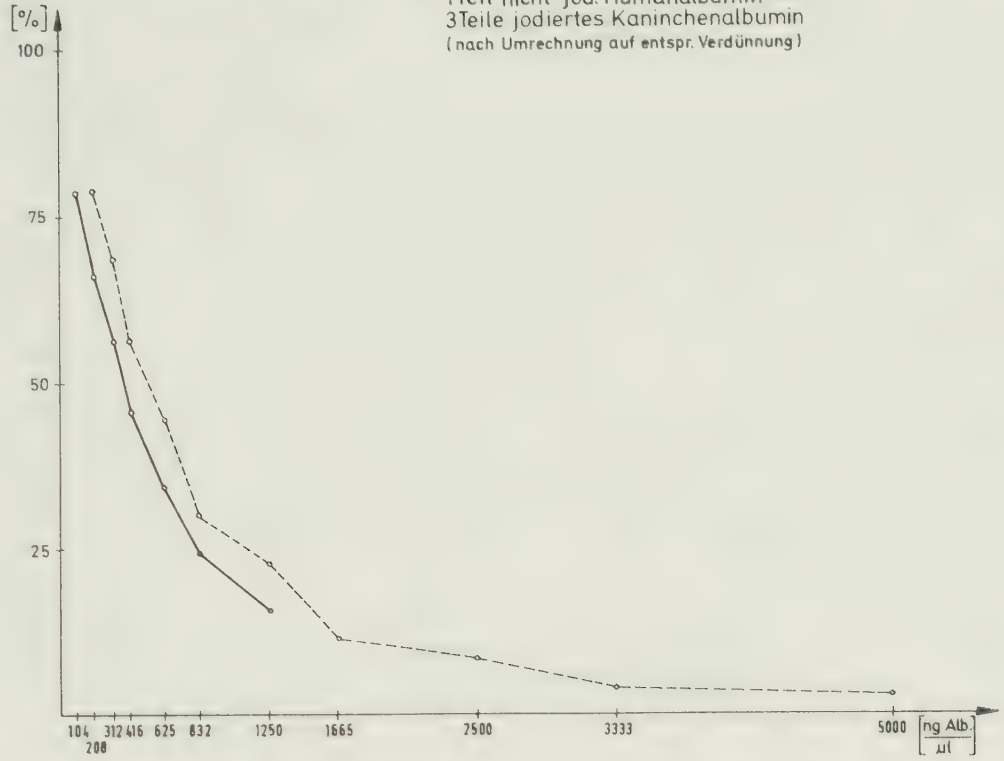


Abb:11a KANINCHEN H_{11}

„Absorption" AG: 1 Teil nicht - jod. Humanalbumin
3 Teile jodiertes Kaninchenalbumin
AK: Antiserum gegen jod. Humanalbumin

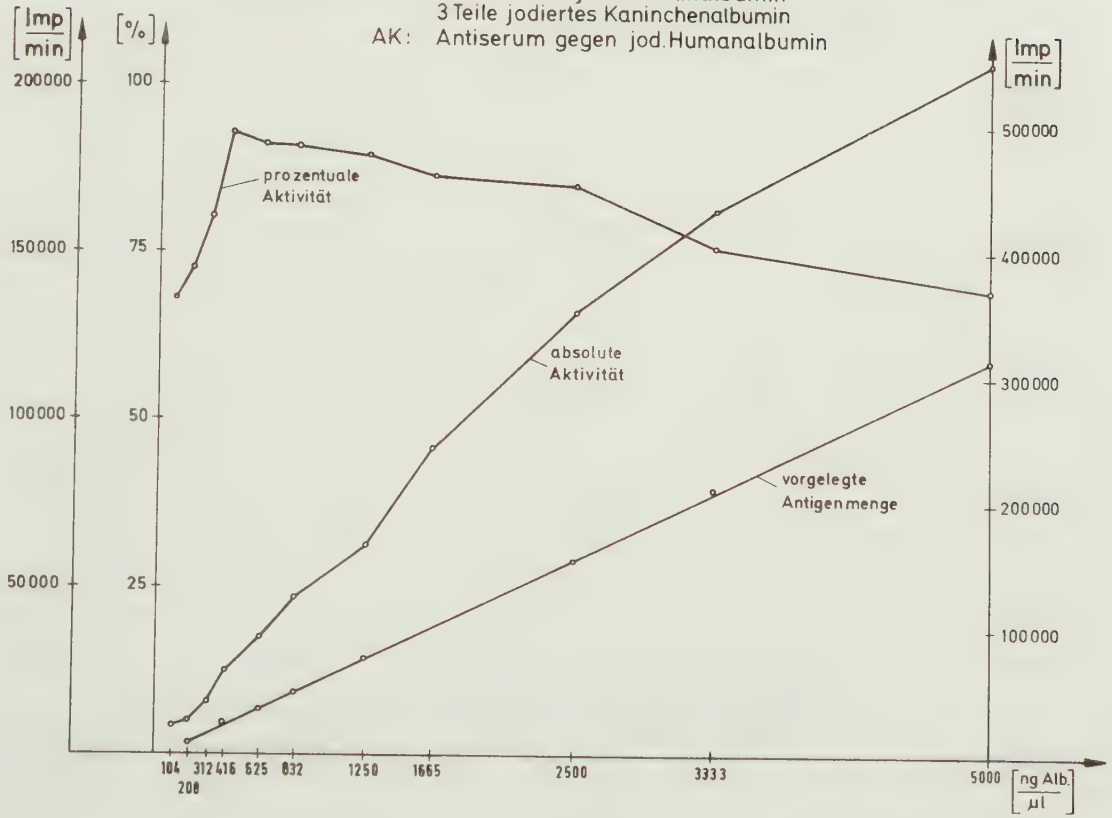
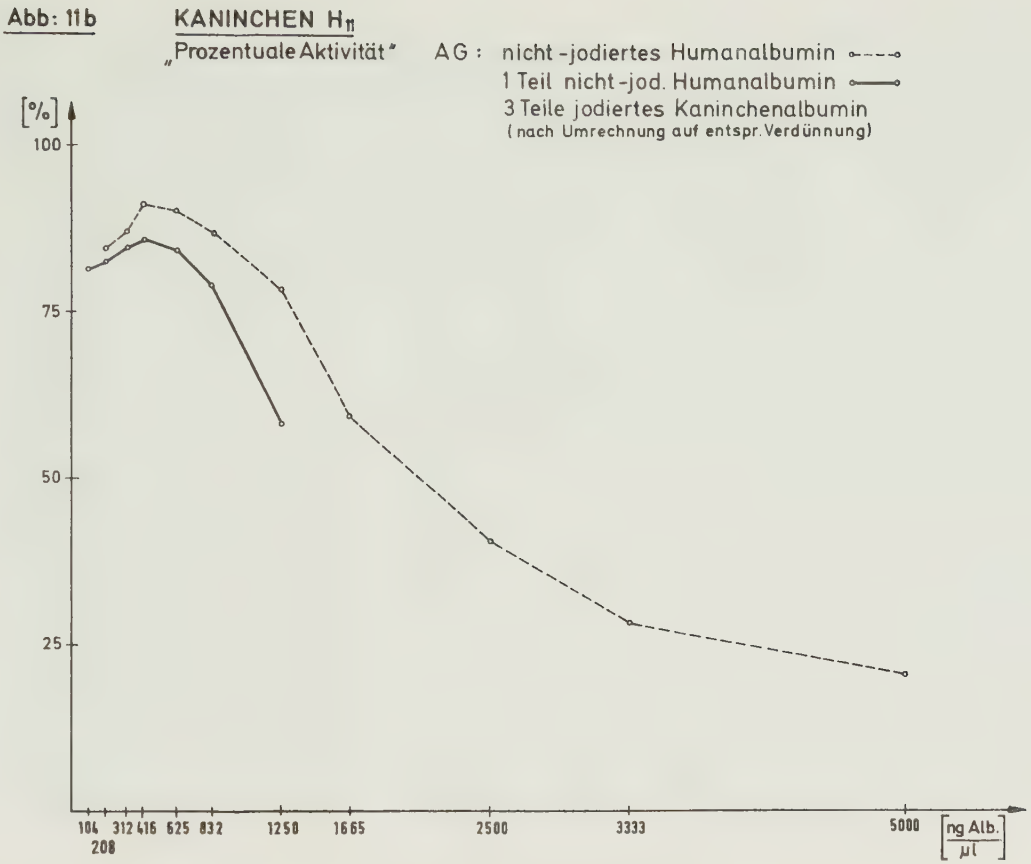


Abb: 11b


KANINCHEN H_{II}
„Prozentuale Aktivität"
AG : nicht-jodiertes Humanalbumin
1 Teil nicht-jod. Humanalbumin
3 Teile jodiertes Kaninchenalbumin
(nach Umrechnung auf entspr. Verdünnung)
[%]
100
75
50
25
104
208
312
416
625
832
1250
1665
2500
3333
5000
[ng Alb. / µl]

V. DISKUSSION

Der Jodismus zeigt sich am häufigsten nach Einwirkung von elementarem Jod (J_2) auf Haut und Schleimhäute. Bei Unverträglichkeitsreaktionen gegenüber jodhaltigen organischen Arzneimitteln dürfte es sich wohl weniger um direkte Reaktionen gegen Jod als um allergische Reaktionen gegen die Struktur des jodhaltigen organischen Gesamtmoleküls handeln. Allergien gegen reines Jodid dagegen sind unbekannt. Allerdings enthält Jodid in Gegenwart von Sauerstoff und Wasserdampf stets Spuren von elementarem Jod, das sich durch Oxidation von Jodwasserstoff (HJ) bildet. Dieses elementare Jod ist an der Gelbfärbung von wässrigen Jodlösungen mit bloßem Auge zu erkennen. Mit der Anwesenheit solcher Verunreinigungen durch J_2 lassen sich etwaige Allergien gegen Jodid zwanglos erklären. Noch größere Mengen an chemisch reaktionsfähigem Jod bilden sich im Magen aus der Reaktion von Jodid mit Salzsäure unter Bildung von Chlorjod (JCl). Daher ist bei jodüberempfindlichen Patienten eine allergische Jodreaktion auch nach Verabreichung von Jodid durchaus vorstellbar, denn aus vielen jodhaltigen organischen Verbindungen wird im Körper Jod freigesetzt, welches als Jodid in den Magen sezerniert wird und dort mit HCl über Chlorjod wie elementares Jod reagieren kann. Auf dem Umwege über die Bildung von jodierten Magenproteinen könnte also ein sekundärer Jodismus entstehen. Die allergische Reaktion gegen elementares Jod läßt sich demnach wahrscheinlich als immunologische Antwort auf denaturierte Proteine erklären. Diese bilden sich aus körpereigenen Proteinen durch Umsetzung mit elementarem Jod. Wie die vorliegenden Ergebnisse gezeigt haben, wird beispielsweise Humanalbumin durch Jodierung so stark modifiziert, daß reines Humanalbumin mit ^{131}J-Humanalbumin nur noch eine immunologische Kreuzreaktion liefert.
Überdies läßt sich sogar die Präzipitinreaktion zwischen ^{131}J-Humanalbumin und nativem Humanalbumin durch hochgra-

dig jodiertes Kaninchenalbumin hemmen. Dieser Absorptionseffekt kam besonders deutlich bei den Antiseren mit niederen Antikörpertitern zum Vorschein, war aber auch bei den hochtitrigen Antiseren deutlich nachweisbar.

Im Hinblick auf den bei Patienten nicht selten beobachteten Jodismus war es Ziel dieser Arbeit, die Bildung neuer immunologischer Determinanten durch Jodierung arteigener Proteine nachzuweisen. Versuchstechnisch geschah dies durch quantitative Analyse von Immunpräzipitaten mit Jodantikörpern, die gegen jodierte Antigene gerichtet waren. Als Antigene für die Sensibilisierung von Kaninchen dienten Protein-Jodhapten-Konjugate. Diese Konjugate setzten sich zum einen aus körpereigenen jodierten Proteinen (KA), zum anderen aus körperfremden jodierten Proteinen (HA) zusammen. In der Präzipitinreaktion wurde handelsübliches ^{131}J-Humanalbumin (Behring-Werke, Marburg) als Indikator eingesetzt. Aus den Präzipitinkurven ließen sich Rückschlüsse über die Änderung der immunologischen Spezifität von Humanalbumin und Kaninchenalbumin durch Einführung von Jod in diese Proteinmoleküle ziehen. Im einzelnen sind folgende Unterschiede hervorzuheben:

Für das Jodhumanalbumin waren die Äquivalenzpunkte in allen Fällen spitzgipflig, die Antikörpertiter lagen stets wesentlich höher als die der Präzipitinreaktion mit dem nativen Antigen.

Für das nicht-jodierte Antigen hatten die Reaktionskurven breit extendierte, abgeflachte und zum Teil sogar mehrere Gipfelpunkte aufzuweisen. Es handelt sich also um eine immunologische Kreuzreaktion zwischen Jod-Humanalbumin und nativem Humanalbumin.

Mit abnehmender Antikörperbildungspotenz der einzelnen Kaninchen trat die Neigung zur Ausbildung mehrerer Gipfelpunkte in den Präzipitinkurven immer augenfälliger in Erscheinung. Zugleich verschoben sich die spitzen Maxima für das homologe Antigen mehr und mehr in den Antikörperüberschußbereich.

Mit den Seren derjenigen Kaninchen, die gegen arteigenes, mit Jod hochsubstituiertes Kaninchenalbumin behandelt worden waren, ließen sich erwartungsgemäß keine eindeutigen Präzipitate erzeugen (HUMPHREY/WHITE, 1972; SELA, 1974). Jedoch zeigten die Absorptionsversuche, in denen ein Teil natives Humanalbumin mit drei Teilen Jod-Kaninchenalbumin gemischt wurde, daß jodhaltige determinante Gruppen des Kaninchenalbumins die Präzipitinkurven von nativem Humanalbumin ganz erheblich modifizieren konnten. Dies äußerte sich nicht nur in einer quantitativen Verschiebung der Äquivalenzpunkte, sondern auch in einer Deformierung der Präzipitinkurven. Auch hier waren die Unterschiede bei den niedrigtitrigen Antiseren deutlicher ausgeprägt als bei den hochtitrigen. Ob die beobachteten Unterschiede bei der Reaktion von ^{131}J-Humanalbumin mit nativem Albumin und Jodalbumin ausschließlich auf die Einführung von Jod als determinierendem Substituenten zurückzuführen sind, muß vorläufig dahingestellt bleiben.

Was die Jodierung angeht, so ist oftmals nicht leicht zu entscheiden, ob die Änderung der antigenen Eigenschaften Folge der Substitution oder einer Nebenreaktion war. Denn sicherlich treten bei einem so schwerwiegenden chemischen Eingriff auch unspezifische Nebenreaktionen wie Denaturierung und Polymerisierung auf (KABAT und MAYER, 1961). In neuerer Zeit wurden die Jodierungsverfahren allerdings wesentlich verbessert, so daß solche Nebeneffekte weitgehend vermieden werden (Mc FARLANE, 1956; BENNHOLD und KALLEE, 1959). Im übrigen sind diese Einschränkungen für die eigentliche Zielsetzung dieser Arbeit auch von untergeordneter Bedeutung, da solche Denaturierungs- und Polymerisierungserscheinungen naturgemäß auch beim Kontakt der Haut und der Schleimhäute mit elementarem Jod statistisch zwangsläufig auftreten.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

27 Kaninchen wurden in zwei Versuchsgruppen zu je 11 Tieren und eine dritte Gruppe mit 5 Kontrolltieren aufgeteilt. Die erste Gruppe wurde gegen ca. 1o,6 %-ig jodiertes Humanalbumin, die zweite Gruppe gegen ca. 9,8 %-ig jodiertes Kaninchenalbumin hyperimmunisiert. Mit den gewonnenen Antiseren wurden Präzipitinreaktionen folgender Zusammenstellungen durchgeführt: ^{131}J-Humanalbumin jeweils im Gemisch mit nativem Humanalbumin, jodiertem Humanalbumin oder jodiertem Kaninchenalbumin.

Die Sensibilisierung gegen jodsubstituiertes körperfremdes Serumalbumin führte zur Bildung von Antikörpern mit hoher Spezifität gegen Jodalbumine.

Natives Humanalbumin lieferte in dieser Reaktion eine abgeschwächte Kreuzreaktion mit ^{131}J-Humanalbumin im Vergleich zu hochjodiertem Humanalbumin.

Mit jodiertem Kaninchenalbumin ließ sich die Kreuzreaktion zwischen Anti-Humanjodalbumin und nativem Humanalbumin hemmen und modifizieren.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1.) ACKROYD, J.F.: Immunological Mechanism in Drug Hypersensitivity.
In: "Clinical Aspects of Immunology". (Hrsg.: P.G.H.GELL, R.R.A.COOMBS and P.J. LACHMANN)
3. A., S. 913.

2.) BENNHOLD, H., KALLEE, E.: Comparative Studies on the Half-Life of I^{131}-Labeled Albumins and Nonradioactive Human Serum Albumin in a Case of Analbuminemia.
J. Clin. Invest. 38, 863 (1959).

3.) CAMPBELL, D.H., STURGEON, P., VINOGRAD, J.R.: Separation of complete and incomplete Rh-Antibodies by centrifugation.
Science 12, 1o91 (1955).

4.) COOMBS, R.A., GELL, P.G.H.: In "Clinical Aspects of Immunology". (P.G.H.GELL and R.A.COOMBS, eds.)
p. 575, Blackwell, Oxford (1963).

5.) DASH, C.H., JONES, H.E.H.: "Mechanism in Drug Allergy".
Churchill, Livingstone 1972.

6.) EISEN, H.N., KESTON, A.S.: The Immunologic Reactivity of Bovine Serum Albumin Labelled with Trace - Amounts of Radioactive Iodine (I^{131}).
J. Immunol. 63, 71 (1949).

7.) FREUND, H.: Das biologische Verhalten jodierter Eiweißkörper.
Biochem. Z. 2o, 619 (19o9).

8.) GERGELY, J., OTT, H.H.: Immunglobuline und Immunopathien.
G. Fischer, Stuttgart 1974.

9.) GRONEMEYER, W.: Arzneimittelallergie, einschl. Serumkrankheit.
In: HANSEN, K., WERNER, M.: "Lehrbuch der klinischen Allergie".
Thieme, Stuttgart 1967.

1o.) HANSEN, K.: Allergie.
3. A.
Thieme, Stuttgart 1957.

11.) HANSEN, K., WERNER, M.: Lehrbuch der klinischen Allergie.
Thieme, Stuttgart 1967.

12.) HAUROWITZ, F., APPEL, G.: Präzipitation von Jodproteinen verschiedenen Jodgehaltes durch Antijodsera.
Z. Immunitaetsforsch. 95, 478 (1939).

13.) HEIDELBERGER, M. and KENDALL, F.E.: Quantitative Studies on the Precipitin Reaction.
The Role of Multiple Reactive Groups in Antigen-Antibody Union as Illustrated by an Instance of Cross-Precipitation.
J. Exp. Med. 59, 519 (1934).

14.) HEIDELBERGER, M., KENDALL, F.E.: A Quantitative Theory of the Precipitin Reaction. II. A Study of an Azoprotein-Antibody System. J. Exp. Med. 62, 467 (1935).

15.) HEIDELBERGER, M., KENDALL, F.E.: A Quantitative Theory of the Precipitin Reaction. III. The Reaction between Crystalline Egg Albumin and its Homologous Antibody. J. Exp. Med. 62, 697 (1935).

16.) HEIDELBERGER, M., KENDALL, F.E.: Quantitative Absolute Methods in the Study of Antigen-Antibody Reactions. Bact. Rev. 3, 49 (1939).

17.) HUGHES, W.L. and STRAESSLE, R.: Preparation and Properties of Serum and Plasma Proteins. XXIV. Iodination of Human Serum Albumin. J. Americ. Chem. Soc. 72, 452 (195o).

18.) HUMPHREY, J.H., WHITE, G.R.: "Kurzes Lehrbuch der Immunologie". (Übers.: Max-Planck-Institut für Immunbiologie, Freiburg) Thieme, Stuttgart 1972.

19.) HUNTER, W.M. and GREENWOOD, F.C.: Preparation of Iodine - 131 Labelled Human Growth Hormone of High Specific Activity. Nature 194, 495 (1962).

2o.) JÄGER, L.: Klinische Immunologie und Allergologie
G. Fischer, Stuttgart 1976.

21.) KABAT, E.A.: Einführung in die Immunchemie und Immunologie.
(Übers.: JANN, K. und RÜDE, E.)
Springer, Berlin 1971.

22.) KABAT, E.A., MAYER, M.M.: Experimental Immunochemistry, 2nd Ed., Thomas, Springfield 1961.

23.) KALLEE, E.: Die Inselzellhormone: Radiojodiertes Insulin. In: "Diabetes mellitus".
(Hrsg.: E.F. PFEIFFER) Band I, S. 247
Lehmann, München 1969.

24.) KLECZKOWSKI, A.: Quantitative Investigation of Changes in Antigenic Properties in the Course of Iodination of Horse-Serum Globulin.
Brit. J. Exp. Path. 21, 98 (194o).

25.) LANDSTEINER, K.: The Specificity of Serological Reactions.
Havard University Press, Cambridge, Mass. 1947.

26.) LANDSTEINER, K., VAN DER SCHEER, J.: On Cross Reactions of Immune Sera to Azoproteins.
J. Exp. Med. 63, 325 (1936).

27.) Mc FARLANE, A.S.: Labelling of Plasma Proteins with Radioactive Iodine.
Biochem. J. 62, 135 (1956).

28.) OBERMAYER, F. und PICK, E.P.: Über die chemischen Grundlagen der Arteigenschaften der Eiweißkörper.
Wiener klin. Wschr. 19, 327 (19o6).

29.) PARKER, C.W.: In "Immunological Diseases".
(Hrsg.: M. Samter, H.L. Alexander)
1st ed., p. 663. Little, Brown, Boston 1965.

3o.) PAULING, L., PRESSMANN, D., BROWN, D.H.:
The Serological Properties of Simple Substances. Part IV.
J. Am. Chem. Soc. 64, 3o15 (1942).

31.) RASSMUSSEN, H.: Iodide Hypersensitivity in the Etiology of Periarteriitis nodosa.
J. Allergy 26, 394 (1955).

32.) RICH, A.R.: Hypersensitivity to Iodine as a Cause of Periarteriitis nodosa.
J. Allergy 56, 423 (1959).

33.) RIEGER, M.: Immunologische Untersuchungen über die Antigenität von jodsubstituierten Humanalbuminen und Kaninchenalbuminen.
Inaug. Diss., Tübingen 1976.

34.) SELA, M.: "The Antigens".
Academic Press, New York 1974.

35.) SHELDON, P., LOVELL, A.S., MATHEWS, P.H.:
A Manual of Clinical Allergy.
Anders, Philadelphia 1967.

36.) SPRENG, M.: Allergie und Zahnmedizin.
Barth, Leipzig 1959.

37.) STEFFEN, C.: Allgemeine und experimentelle Immunologie und Immunopathologie sowie ihre klinische Anwendung.
Thieme, Stuttgart 1968.

38.) TALMAGE, D.W. and MAURER, P.H.: I^{131}-Labelled Antigen Precipitation as a Measure of Quantity and Quality of Antibody.
J. Infect. Dis. 92, 288 (1953).

39.) TALMAGE, D.W.: Immunological Specifity.
Unique Combinations of Selected Natural Globulins Provide an Alternative to the Classical Concept.
Science 129, 1643 (1959).

4o.) TRISTAM, G.R. and SMITH, R.H.: Amino Acid Composition of Certain Proteins.
In: "The Proteins". (Hrsg.: H. NEURATH)
Vol. I, 2nd Ed., p. 46

41.) WILLIAMS and CHASE: Methods in Immunology and Immunochemistry. Vol. I und III.
Academic Press, New York 1967 und 1971.

Herrn Professor Dr. E. Kallee möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas meinen Dank aussprechen.

Ferner gilt mein Dank Herrn und Frau Drs. K.P. und M. Rieger für methodische Hinweise.

Bei Herrn Dipl.-Chemiker Steiner möchte ich mich für die Anleitung zur Jodierung bedanken.

L E B E N S L A U F

Am 16. Juni 1948 wurde ich, Albin Ernst E L I S C H E R, als zweites Kind des Volksschullehrers Johann Elischer und dessen Frau Margarete in Lam, Krs. Kötzting/Bayer. Wald geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule Bubenhausen bei Weißenhorn trat ich im September 1959 in die Oberrealschule Weißenhorn, Krs. Neu-Ulm, ein. Das Abitur legte ich am 28. Juni 1969 am Simpert-Kraemer-Gymnasium in Krumbach/Schwaben ab.

Am 1. Juli 1969 wurde ich zum Grundwehrdienst eingezogen und am 3o. Juni 1971 als Leutnant d. Res. entlassen.

Im Oktober 1971 begann ich an der Universität Ulm das Studium der Medizin.

Im Juli 1972 legte ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung und im September 1973 die ärztliche Vorprüfung ab.

Im Oktober 1973 begann ich an der Universität Tübingen das Studium der Zahnheilkunde und legte im September 1974 die zahnärztliche Vorprüfung ab.

Am 22. Juni 1977 beendete ich das Studium mit dem Staatsexamen.